

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
– Kieferchirurgische Klinik – der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. H. Scheunemann

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Kälteschädigung der A. Carotis Communis

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Jürgen Berger
aus Essen

Mainz 1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
— Kieferchirurgische Klinik — der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. H. Scheunemann

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Kälteschädigung der A. Carotis Communis



Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Jürgen Berger
aus Essen

Mainz 1976



Fachbereichsdekan:

Prof. Dr. K. Fuhr

Referent:

Prof. Dr. Dr. J.-E. Hausamen

Korreferent:

Prof. Dr. K. Paulini

Tag der mündlichen Prüfung:

2. Juni 1976

MEINEN ELTERN GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. <u>EINLEITUNG</u>	1
2. <u>KRYOBIOLOGISCHE GRUNDLAGEN</u>	
2.1. Heterogene Nukleation	4
2.2. Homogene Nukleation	5
2.3. Zelltod	7
3. <u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u>	
3.1. Versuchstiere	9
3.2. Kältegerät	9
3.3. Operationsverlauf	10
3.4. Versuchsauswertung	13
4. <u>ERGEBNISSE</u>	
4.1. Makroskopische Ergebnisse	15
4.2. Histologische Ergebnisse	17
5. <u>DISKUSSION</u>	26
6. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	32
7. <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	33
<u>LEBENS LAUF</u>	

1. EINLEITUNG

Seit den ersten geschichtlichen Hinweisen über die Anwendung von Kälte auf lebendes Gewebe durch BOYLE (1665) und später SPALLANZI (1787), - er untersuchte den Einfluß tiefer Temperaturen bis -24°C auf Amphibien, Fische, Reptilien und Vögel - , gab es immer wieder Bestrebungen, die Wirkung der Kälte auf lebende Zellen für medizinische Zwecke zu nutzen. Schon 1851 gab ARNOTT eine Methode an, Tumoren mit Hilfe von Kälte zu behandeln. OPENCHOWSKI (1883) schließlich war es, der durch Verdampfung von Aether tiefe Temperaturen erzeugte und damit Teile der Hirnrinde zerstören konnte. Die Entwicklung innerhalb der darauffolgenden Jahre mit weiterführenden theoretischen und praktischen Untersuchungen sowie immer wieder verbesserten und neu entwickelten technischen Apparaturen führte zur Kryochirurgie, die inzwischen in verschiedenen medizinischen Fachgebieten klinisch Anwendung findet.

Die therapeutische Anwendung tiefer Temperaturen (bis -196°C) ergibt sich im wesentlichen aus vier Reaktionen, die eine Vereisung im lebenden Gewebe hervorruft (BELLOWS, 1965; HAUSAMEN, 1972). Hierzu gehören der adhäsive Effekt, der das Gewebe an der vereisten Kältesonde anhaften läßt und die hämostatische Wirkung, die durch eine kältespezifische Gerinnung zum thrombotischen Verschluß kleiner Gefäße führt. Therapeutisch nutzbar sind weiterhin die entzündliche

Reaktion des eingefrorenen Gewebes und ganz besonders der nekrotisierende Effekt auf lebende Zellen. Gefriereschwindigkeit, Gefriertiefe, Gefrierdauer und Auftaugeschwindigkeit sind die wichtigsten Parameter, mit denen die gewünschten Reaktionen steuerbar sind. So kommt der adhäsive Effekt der Kälte in einem Temperaturbereich von ca. -20°C bis -70°C besonders zur Geltung, da die sich zwischen Gewebe und Sonde ausbildenden Eiskristalle dann eine Größe erreicht haben, die einen möglichst großen Hafteffekt zuläßt (GERLACH et al., 1969). Dieses Prinzip findet in der Ophthalmologie bei der intrakapsulären Kataraktextraktion eine weit verbreitete und erfolgreiche Anwendung (BELLOWS, 1965 und 1967; GERLACH, 1966; BANGERTER, 1970; STRAUB, 1971). Die entzündliche Antwort des Gewebes auf den Kontakt mit der Kälte wird von den Ophthalmologen häufig zur Behandlung der Netzhautablösung genutzt. Durch den kurzzeitigen Kontakt der auf ca. -60°C abgekühlten Sonde mit der Sklera läßt sich eine aseptische Chorio-retinitis erreichen, die schließlich zu einer bindegewebigen Verwachsung von Netz- und Aderhaut führt (BELLOWS, 1965; WALDER, 1972).

Große Verbreitung hat die Kryotherapie wegen ihrer nekrotisierenden Wirkung als zusätzliches Operationsverfahren in vielen chirurgischen Fachdisziplinen gefunden. Als Hauptindikationsgebiet erweist sich in fast allen Fachbereichen die Behandlung von Tumoren. Die Kälte dient dabei zum einen als primärer Zerstörungsfaktor, zum anderen ermöglicht sie ein zu anderen Behandlungsmethoden ergänzendes Verfahren und schließlich

kann sie bei fortgeschrittenen, infausten Fällen palliativ eingesetzt werden (CAHAN, 1971; CAHAN, 1972; LEDEN v., 1973).

Die ersten Mitteilungen über die moderne operative Kältetherapie kommen aus dem Bereich der Neurochirurgie. Hier war es vor allem COOPER (1961, 1962, 1963), der stereotaktische Gehirnoperationen und Hypophysektomien mit Hilfe der Kryochirurgie durchführte. Heute ist ferner die Kältebehandlung von Tumoren sowie arteriovenöser Anomalien Bestandteil der neurochirurgischen Therapiemöglichkeiten (WALDER, 1970 und 1972).

In der Kiefer- und Gesichtschirurgie konnte die Kältetherapie bisher erfolgreich bei der Behandlung von intraepithelial gelegenen Veränderungen der Mundschleimhaut (Leukoplakien, Morbus Bowen) sowie bei benignen und malignen Tumoren des Gesichtsschädels und der Mundhöhle eingesetzt werden (GAGE et al., 1965 und 1967; v. LEDEN und RAND, 1966 und 1967; WULLSTEIN, 1966; GAGE, 1968, 1969, 1972; EMMINGS et al., 1967; MILLER, 1969; GOLDSTEIN, 1970; HAUSAMEN, 1972 und 1973). In einer Reihe von kryobiologischen Experimenten wurden die Reaktionen verschiedener Gewebe, wie zum Beispiel Knochen (EMMINGS et al., 1966; GAGE et al., 1966; HAUSAMEN, 1972) und Schleimhaut (MARCHETTA et al., 1968; HAUSAMEN, 1972; HAUSAMEN und REUTER, 1974) auf die extreme Kälte untersucht.

In der vorliegenden Arbeit soll die Wirkung der tiefen Vereisung auf die A. carotis communis am Kaninchen untersucht und die Degeneration und Regeneration der Gefäßwand chronologisch dargestellt werden.

2. KRYOBIOLOGISCHE GRUNDLAGEN

Die grundlegenden Untersuchungen über die biochemischen und physikalischen Vorgänge im Bereich der Zelle während und nach dem Gefriervorgang vor allem durch LOVELOCK (1953 und 1957), MAZUR (1961, 1965, 1966 und 1968) und FARRANT (1971 und 1972) führten zu dem Ergebnis, daß lebende Zellen durch eine unterschiedliche Behandlung mit tiefen Temperaturen entweder konserviert oder zerstört werden können. Behandlungsmethoden und Voraussetzungen, die über Leben oder Tod der Zelle entscheiden, werden im folgenden erläutert.

2.1. Heterogene Nukleation

Unter der heterogenen Nukleation versteht man nach MAZUR (1961) das langsame Gefrieren einer Zelle (Gefriereschwindigkeit $1 - 10^{\circ}\text{C}/\text{Min}$), wobei sich zunächst im extrazellulären Raum Eiskristalle bilden. Im Gegensatz dazu bleibt die intrazelluläre Flüssigkeit bis zu einer Temperatur von -15°C frei von Eiskristallen, was auf den Mangel an intrazellulären Kristallisationskernen zurückgeführt wird (HAUSAMEN, 1972). Da also nur das extrazelluläre Wasser kristallisiert, bildet sich zwischen den durch die Zellmembran getrennten Räumen eine osmotische Druckdifferenz aus, die durch Diffusion des intrazellulären Wassers in den extrazellulären Raum ausgeglichen wird, bis sich wieder ein osmotisches Gleichgewicht ausgebildet hat. Diese Prozedur, bei der die extrazelluläre Elektrolyt-

konzentration bis in den toxischen Bereich ansteigt, überleben nach MAZUR und SCHMIDT (1968) nur etwa 10 - 50 % aller Zellen. Diese "gefriergetrockneten" Zellen jedoch sind in der Lage, weitere Temperaturniedrigungen bis zum Bereich von -80°C zu ertragen, in dem ihre Stoffwechsel- und Enzymaktivitäten so stark reduziert sind, daß sie eine gewisse Zeit überleben können.

Anwendung findet dieses Prinzip bei der Langzeitaufbewahrung bestimmter Zellen, wie zum Beispiel Erythrozyten und Spermatozoen. Allerdings ist man in der Praxis zu schonenderen Methoden übergegangen, indem man sogenannte Kälteschutzsubstanzen verwendet, die über ein hohes Wasserbindungsvermögen verfügen. Mit ihrer Hilfe kann man, je nach Diffusionscharakter des verwendeten Mittels, eine extra- und intrazelluläre Eiskristallbildung verhindern. Mit diesem Verfahren können die Zellen dann noch tieferen Temperaturen ausgesetzt und somit längere Zeit am Leben erhalten werden.

2.2. Homogene Nukleation

Für einen sicheren zellzerstörenden Effekt ist die heterogene Nukleation mit Überlebensraten bis zu 50% unzureichend. MAZUR (1961) beschreibt für diesen Fall die "homogene Nukleation", bei der durch die Wahl einer hohen Gefriereschwindigkeit von $100^{\circ}\text{C}/\text{Min}$ und mehr sowohl das extrazelluläre als auch das intrazelluläre Wasser Eiskristalle bildet (SIGEL und SCHROTT, 1967). Der schnelle Temperaturabfall

sorgt dafür, daß das intrazelluläre Wasser gefriert, bevor es aus der Zelle diffundieren kann. Weiterhin ist eine ausreichend tiefe Gefrier-temperatur erforderlich, die nach den Beobachtungen von WOOD und ROSENBERG (1957) bei mindestens -20°C liegen muß. Erst unterhalb dieser Temperatur ist das gesamte intra- und extrazelluläre Wasser gefroren.

Hohe Gefriergeschwindigkeit und tiefe Temperaturen allein ergeben jedoch noch keine befriedigende kryonekrotische Wirkung. Die Überlebenschancen so behandelter Zellen liegen nach den Untersuchungen von SCHROTT et al. (1969) immerhin noch bei 10^{-5} bis $10^{-4}\%$. Von der mathematischen Überlegung ausgehend, daß sich die Gesamtwahrscheinlichkeit aus der Multiplikation der Einzelwahrscheinlichkeiten errechnet, wird gefolgert, daß die Überlebenschancen bei nur einmal wiederholtem Gefriervorgang auf 10^{-10} bis $10^{-8}\%$ reduziert werden können. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, dieselben Zellen mehrfach zu gefrieren, damit die Überlebensrate so weit wie möglich gesenkt werden kann (CLAUSSEN und SCHMIDT, 1968).

Auch die Wahl der Auftaugeschwindigkeit entscheidet mit über den zerstörenden Effekt des Gefriervorganges. Sind die Eiskristalle bei extrem tiefen Temperaturen noch außerordentlich klein, durchlaufen sie beim langsamen Auftauen mehrere Um- und Rekristallisationsphasen, bei denen sich die Kristalle vergrößern und die Zellmembranen schädigen (SIGEL und SCHROTT, 1967). Beim schnellen Auftauen dagegen werden die

Umkristallisationsvorgänge weitgehend umgangen. MAZUR und SCHMIDT (1968) fanden bei ihren Untersuchungen, daß sich die Zahl der überlebenden Zellen von 1 auf 10 000 erhöht, wenn die Auftaugeschwindigkeit von 1°C/Min auf 1 500°C/Min gesteigert wird. Eine für den kryonekrotischen Effekt wirksame Auftaugeschwindigkeit sollte bei 10°C/Min liegen. Welchen Wert die lange Auftauzeit für die Zellzerstörung darstellt verdeutlichen die Untersuchungen von SIGEL und SCHROTT (1967) und SCHROTT et al., (1969), nach denen die nekrotisierende Wirkung eines langsamen Auftauvorganges der eines wiederholten Gefriervorganges gleichzusetzen ist.

2.3. Zelltod

Für den Zelltod werden verschiedene ursächliche Faktoren verantwortlich gemacht. So kann der Kontakt der einzelnen Zelle mit der tiefen Kälte folgende letale Auswirkungen haben:

- 1) Thermoschock mit Zerreißung der Membranlipoidstrukturen
(LOVELOCK, 1954).
- 2) Denaturierung der Lipoproteinkomplexe der Zellmembranen
(LOVELOCK, 1957).
- 3) Erreichen einer toxischen Elektrolytkonzentration
(LOVELOCK, 1953; GERLACH et al., 1966; MAZUR, 1966).
- 4) Mechanische Verletzung der Zellmembran durch intra- und extrazelluläre Eiskristalle (LOVELOCK, 1953; COOPER, 1965; NEI, 1968; CLAUSSEN, 1969).

Im lebenden Gewebe hingegen sind Form und Größe des nekrotischen Bezirkes außerdem in erheblichem Maß von der Durchblutung abhängig. Während und nach der Kryotherapie einsetzende Blut- und Gefäßwandveränderungen, wie Hämostase, Tonusverlust der Gefäßmuskulatur und thrombotische Verschlüsse kleiner Gefäße, führen zu sekundären Gewebefarkten (KOFLER, 1969), die auch über den Bereich der ursprünglichen Applikationsstelle hinausgehen (HAUSAMEN, 1972). Das makroskopische Bild der Kryonekrose ist mit dem der Koagulationsnekrose vergleichbar; mikroskopisch zeigt sie den Charakter einer hämorrhagischen Nekrose (KOFLER, 1969).

3. EIGENE ÜNTERSUCHUNGEN

3.1. Versuchstiere

Es standen 25 männliche und weibliche Kaninchen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 2,8 kg zur Verfügung. Die Tiere wurden in Einzelkäfigen unter gleichen Lebensbedingungen gehalten und mit Altromin - Standarddiät ernährt.

3.2. Kältegerät

Als Kältespender diente das Gerät "Kryomed" der Firma Leybold-Heraeus, Köln, das nach dem Prinzip des von COOPER (1963) entwickelten Gefriergerätes arbeitet. Dieses Gerät bietet den Vorteil, eine bestimmte Temperatur über eine bestimmte Zeitdauer konstant zu halten.

Die Hauptbestandteile des Gefriergerätes sind ein Vorratsbehälter mit Überdruckventil für die Aufnahme des flüssigen Stickstoffs, ein vakuumisolierter, flexibler Zuleitungs- und gleichzeitig Ableitungsschlauch sowie ein elektronischer Steuerteil. An das Schlauchende können Sonden verschiedener Form und Größe angeflanscht werden. Für die vorliegende Versuchssreihe wurde ein geschlossener Gefrierkopf mit einem Durchmesser von 9 mm und einer konvexen Oberfläche gewählt. Wird das Gerät über den Fußschalter in Betrieb gesetzt, strömt flüssiger Stickstoff durch eine Leitung des Schlauches zur Sondenspitze, verdampft dort und wird über zwei weitere Leitungen wieder zum Gerät abgeleitet. Der in den Gefrier-

kopf eingebaute Thermostat sorgt für die Einhaltung der am Steuerteil vorwählbaren Temperatur zwischen 0°C und -196°C , indem der Stickstoffzufluß zur Sonde nach Erreichen der gewählten Temperatur automatisch unterbrochen wird und erst wieder freigegeben wird, wenn die Temperatur der Sondenfläche auf einen kritischen Wert angestiegen ist. Nach den Untersuchungen von HAUSAMEN (1972) herrscht dabei weitgehende Übereinstimmung zwischen der Temperaturanzeige des Gerätes und der tatsächlich erreichten Temperatur an der Sondenaußenfläche. Das Ende der vorgewählten Gefrierzeit wird durch ein optisches und akustisches Signal angezeigt. Zur raschen Ablösung des Gefrierkopfes vom erstarrten Gewebe dient eine in den Sondenkopf eingebaute elektrische Heizung. So kann das gefrorene Gewebe spontan auftauen, und gleichzeitig vermindert sich die Gefahr der Verletzung des Gewebes, da bereits kleinste Bewegungen der Sonde während des Gefriervorganges mechanische Traumen verursachen können.

3.3. Operationsverlauf

Die Tiere wurden mit einer Injektion Pentobarbital (Nembutal^(R)) in die Ohrrendvene narkotisiert. Die mittlere Dosis betrug 35 mg/kg Körpergewicht.

Nach Enthhaarung im lateralen Halsbereich ließ sich die Haut mit Jod-Tinktur desinfizieren. Der Hautschnitt wurde vom Kieferwinkel aus etwa 6 cm parallel zum Verlauf des M. sternocleidomastoideus nach caudal

und ventral geführt. Nach stumpfer Durchtrennung der oberflächlichen Gewebsschichten und Abdrängung der Halsmuskulatur erschien das Gefäß-Nerv-Bündel in typischer Lokalisation. Die A. carotis communis wurde auf eine Länge von ca 4 cm vorsichtig freipräpariert. (Abb: 1). Als Wärmeisolation gegenüber dem umgebenden Gewebe unterlegten wir das Gefäß mit einer kleinen Mull-Kompresse. Dieses Verfahren erschien vorteilhaft, da einerseits das umgebende Gewebe besser vor einer Kälteschädigung geschützt werden konnte, andererseits die durch die Nachbarschaft der anderen Halsgefäße bedingte Wärmekonvektion verringert wurde.

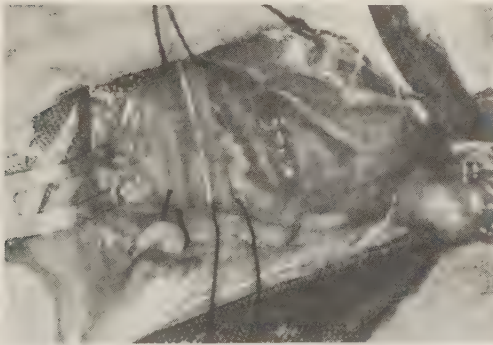


Abb.: 1

Darstellung des Gefäß-Nerv-Bündels unmittelbar vor dem kryochirurgischen Eingriff. (Die A. carotis communis ist mit zwei Seidenfäden markiert).

Wir standardisierten die Versuchsbedingungen, indem die Kryosonde bei normaler Raumtemperatur leicht auf das Gefäß aufgesetzt und erst dann der Zustrom des Stickstoffes zur Sondenspitze freigegeben wurde. Die erreichte Temperatur betrug -160°C , und die Gefrierdauer, d.h. die Zeit vom Beginn bis zur Beendigung des Stickstoffzuflusses, wurde einheitlich auf drei Minuten festgesetzt. Anschließend hoben wir die Sonde ab und überließen das Gefäß der spontanen Auftauung. Die Auftauzeit, d.h. der Zeitraum vom Abheben der Sonde bis zum Beginn der Pulsation im distalen Gefäßabschnitt, betrug zwischen 2 Minuten und 5 Sekunden und 4 Minuten und 10 Sekunden. Zur Markierung des eingefrorenen Gefäßabschnittes fixierten wir an seinem unteren Ende im unmittelbar benachbarten Gewebe einen Seidenfaden und verschlossen die Operationswunde anschließend mit Situationsnähten.

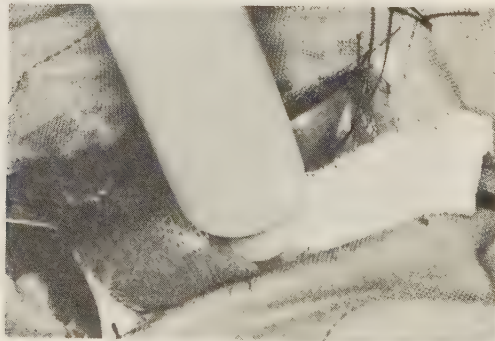


Abb.: 2

Kryosonde in situ während des Gefriervorganges. Die A. carotis communis wurde zur Isolation gegenüber dem umgebenden Gewebe mit einer Mull-Kompresse unterlegt.

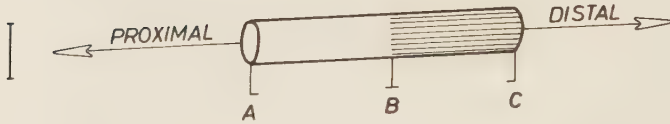
3.4. Versuchsauswertung

In der o.a. Weise operierten wir nach der festgesetzten Überlebensdauer von 1 Stunde vier, nach 1 Tag, 3 Tagen, 1 Woche, 2 Wochen, 1 Monat und 2 Monaten jeweils zwei und nach 4 Monaten, 6 Monaten und 1 Jahr jeweils drei Versuchstiere. Die Fadenmarkierung erleichterte das Auffinden des ca 1 cm langen eingefrorenen Gefäßstückes, das wir, nach Unterbindung der Arterie, am cranialen Ende absetzten. Um für die spätere histologische Untersuchung des Gefäßes einen Vergleich zur unbehandelten Gefäßwand zu erhalten, wurde das Gefäßrohr ca 1 cm proximal der Fadenmarkierung abgesetzt. Das herauspräparierte Gefäß kennzeichneten wir am distalen Ende mit einer neuen Fadenmarkierung und fixierten es in 10%igem Formaldehyd. Die Versuchstiere töteten wir durch eine Überdosis Pentobarbital.

Nach Wässerung und Paraffinierung der Präparate wurden diese in drei Abschnitte zerteilt und in Paraffin eingebettet. (Abb.: 3). Vom 1. und 3. Teil konnten jeweils 24 Querschnitte, vom 2. Teil bei den meisten Präparaten Längsschnitte angefertigt werden. Da die Gefäßwandschichten nach LENZ und PREUSSLER (1973) auch in der Peripherie der Kryoläsion eine überschüssige Reaktion zeigen, legten wir die Schnittfläche (A) des ungefrorenen Gefäßabschnittes weit entfernt vom gefrorenen Abschnitt fest, um ein möglichst genaues Vergleichspräparat zu erhalten. Die Schnittfläche (E) des gefrorenen Gefäßbereiches wählten wir dagegen im Zentrum der Kryoläsion. Die 6 μ dicken Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin, mit WEIGERT'S Resorcin-Fuchsin-Lösung, nach van GIESON und nach GOLDNER gefärbt.

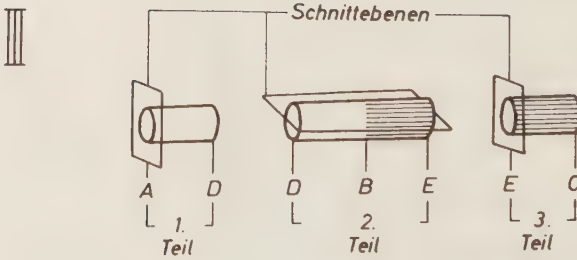
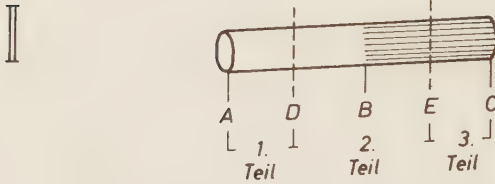
Abb.: 3

Aufteilung des Präparats zur Anfertigung histologischer Schnitte



$\overline{AB}$ = unbehandelter Gefäßabschnitt

$\overline{BC}$ = kryochirurgisch behandelter Gefäßabschnitt



4. ERGEBNISSE

4.1. Makroskopische Ergebnisse

Nach Aufsetzen der Kryosonde auf die Arterie und Beginn des Stickstoffzuflusses zur Sondenspitze ist das Gefäß bald erstarrt. Noch etwa 1,5 bis 2 mm proximal und distal der Aufsetzstelle erscheint das Gefäß weiß gefroren. Die Pulsation auf der proximalen Seite ist deutlich zu sehen, während sie auf der distalen fehlt.

Mit Ablauf der Gefrierzeit und nach Abheben der Sonde zeigt sich der Gefäßabschnitt auf einer Länge von ca 12 mm vollständig gefroren. Der jetzt beginnende Auftauvorgang ist durch gleichzeitiges Vorstoßen der Blutsäulen von distal und proximal erkennbar, bis schließlich der ungehinderte Blutfluß wieder gegeben ist und die Pulswelle damit auch im distalen Gefäßbereich erscheint.

Der kryochirurgisch behandelte Abschnitt ist im Vergleich zur normalen Arterie als Zeichen der reaktiven Hyperämie dunkelrot gefärbt. Sein Durchmesser ist um das durchschnittlich 1,5 - fache seines vorherigen Wertes angestiegen. (Abb.: 4). In wenigen Fällen können Hämorrhagien im direkt benachbarten Gewebe beobachtet werden.

Auch nach Tagen und Wochen erscheint der Durchmesser im Vergleich zum unbehandelten Gefäß vergrößert. Während anfänglich noch das Bild der Serom- und Fibrinausschwitzung vorherrscht, zeigt sich später

eine bindegewebige Verwachsung des Gefäßrohres mit dem umgebenden Gewebe.

Während des gesamten Beobachtungszeitraumes läßt sich bei keinem der 25 Versuchstiere eine Ruptur, ein Aneurysma oder eine Obliteration der A. carotis communis nachweisen.

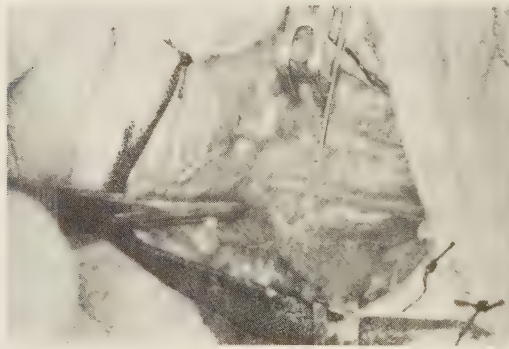


Abb.: 4

Situation nach dem Auftauvorgang. Die Kanüle markiert den Übergang vom normalen Gefäß (links) zum kryochirurgisch behandelten, deutlich verdickten Gefäßabschnitt (rechts).

4.2. Histologische Ergebnisse

4.2.1. Überlebensdauer: 1 Stunde

Die Untersuchung nach einer Stunde zeigt ein aufgelockertes, unter dem Einfluß des reaktiven Ödems stehendes Bild der Gefäßwand, das besonders im Bereich der Adventitia deutlich wird. In der Media sind fast alle Muskelzellkerne erhalten, doch sind bereits auch die Muskelfasern ödematös verbreitert. Die elastischen Fasern verlaufen normal geschlängelt und sind kontinuierlich; nur wenige Abbrüche sind zu erkennen. Insgesamt sind 12 bis 13 Schichten elastischer Fasern zu sehen; die gleiche Anzahl läßt sich auch im ungefrorenen Präparat des gleichen Gefäßes nachweisen. Die Endothelauskleidung des Gefäßrohres fehlt fast völlig. (Abb.: 5).

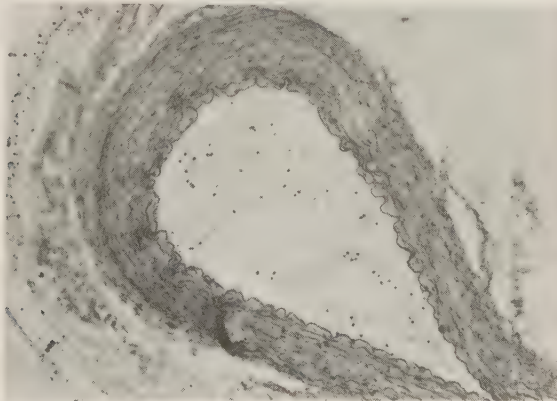
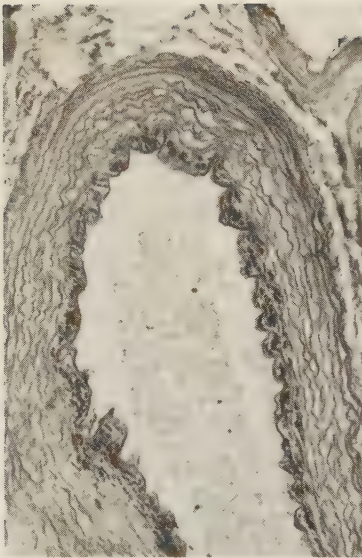
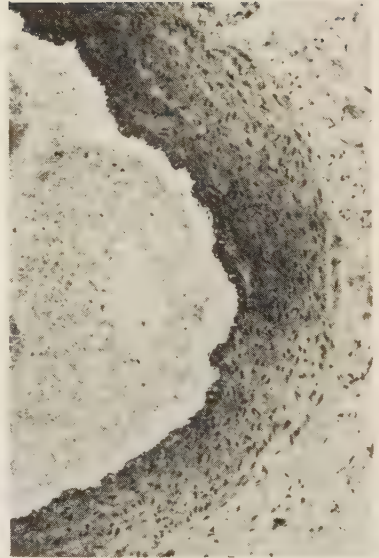


Abb.: 5

Querschnitt durch die Arterie eine Stunde nach dem Einfrieren. Ödem im Bereich der Adventitia und Media. Das Endothel fehlt fast überall. (HE, 100-fach).



a



b

Abb.: 6 a) u. b)

- a) Querschnitt nach 1 Tag. Es sind keine Zellkerne mehr vorhanden, unter der *Elastica interna* sind Granulozyten erkennbar. (HE, 160-fach).
- b) Querschnitt vom gleichen ungefrorenen Gefäßabschnitt. (HE, 160-fach).

4.2.2. Überlebensdauer: 1 Tag

Der Gewebeschaden ist jetzt ganz offensichtlich. Im Bereich aller drei Wandschichten fehlen die Zellkerne. Die Adventitia und das perivasale Gewebe einschließlich peripherer Nervenfasern sind zerstört. Die Media zeigt ein aufgelockertes, zum Teil verwaschenes Bild. Unterhalb der *Elastica interna* sind deutlich neutrophile und eosinophile Granulozyten

sowie einzelne mononukleäre Zellen zu sehen. Zwischen den nekrotischen Muskelzellen finden sich gestreckte elastische Fasern, die zum Teil kontinuierlich, zum Teil aber auch aufgesplittert und unterbrochen erscheinen. Gegenüber der Norm (12 - 13 Schichten) sind jedoch nur 7 - 8 elastische Faserschichten erkennbar. Das Endothel fehlt. (Abb.: 6)

4.2.3. Überlebensdauer: 3 Tage

Hier zeigt sich im Vergleich zum ersten Tag kein prinzipieller Unterschied im histologischen Aufbau der Gefäßwand. In der Umgebung ist entfernt liegendes Fettgewebe zum Teil noch erhalten; Adventitia und Media weisen allerdings nach wie vor eine ausgedehnte Nekrose auf. Zu erkennen sind auch hier 7 - 8 Schichten elastischer Fasern.

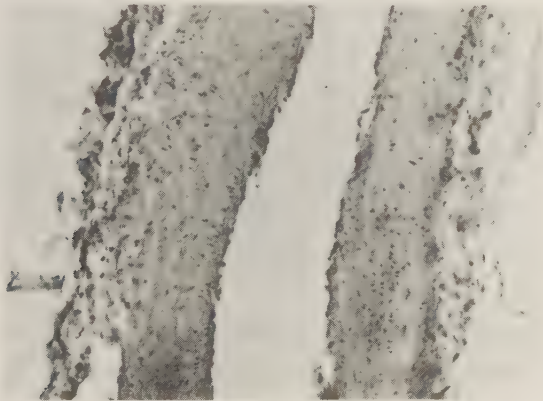


Abb.: 7

Längsschnitt nach drei Tagen. Der Übergang vom ungefrorenen, zellreichen Bezirk (unten) zum nekrotischen Gefäßabschnitt (oben) ist erkennbar. (HE, 160-fach).

4.2.4. Überlebensdauer: 1 Woche

Die Regeneration ist nach sieben Tagen bereits im Gange. Neben nekrotischen Bezirken in der Adventitia werden Kapillarsprossen und junges Bindegewebe sichtbar. Die Media ist insgesamt deutlich schmaler geworden. 8 bis 9 Schichten weitgehend gestreckter elastischer Fasern liegen dicht beieinander. Am Übergang zur Adventitia findet man Zellen mit längsovalen Kernen, die den Fibroblasten zuzuordnen sind. Auf mehreren Querschnitten lassen sich einzelne Endothelzellen nachweisen. (Abb.: 8)

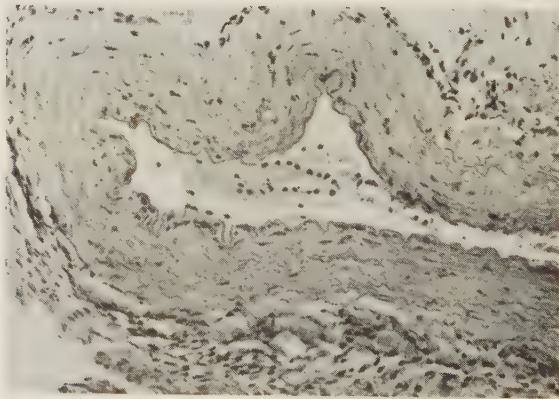


Abb.: 8

Eine Woche nach der Kältebehandlung zeigt die Gefäßwand bereits deutliche Regenerationserscheinungen. (HE, 160-fach)

4.2.5. Überlebensdauer: 2 Wochen

Um das Gefäß sieht man nicht ganz frisches Granulationsgewebe, das mit Makrophagen durchsetzt ist. Im Bereich der Adventitia findet sich Granulationsgewebe mit reichlich Fibroblasten und Ausbildung kollagener Fasern. Die Fibroblasten reichen bis in die mittleren Anteile der Media. Lumenwärts bleibt ein zellarmer Saum bestehen. Die Media erscheint schmal, man zählt im Durchschnitt etwa 9 Schichten elastischer Fasern. Die Gefäßwand ist kontinuierlich von einer Endothelschicht ausgekleidet.

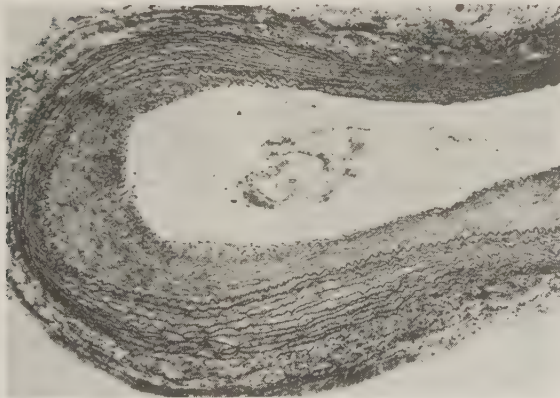


Abb.: 9

Querschnitt 4 Wochen nach der kryochirurgischen Behandlung. Man sieht zum Teil erhebliche subendotheliale Proliferationen.

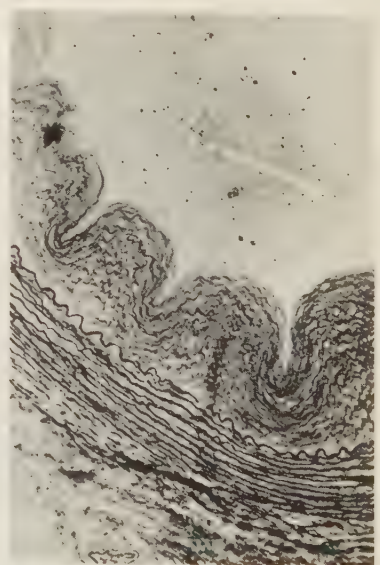
(WEIGERT'S Resorcin-Fuchsin, 100-fach)

4.2.6. Überlebensdauer: 1 Monat

In der Adventitia werden neben Fibroblasten vermehrt Fibrozyten und kollagene Faserzüge sichtbar. Die lumenwärts gerichtete Proliferation von unreifen Mesenchymzellen und Fibroblasten hat stellenweise auf den sub-endothelialen Gewebsbereich übergreifen. Die elastischen Fasern verlaufen gestreckt und kontinuierlich. Die Endothelschicht erscheint geschlossen. (Abb.: 9).



a



b

Abb.: 10 a) und b)

- a) Nach 2 Monaten zeigen sich bindegewebige subendotheliale Proliferationen, die weit in das Gefäßlumen hineinragen.
(WEIGERT'S Resorcin-Fuchsin, 40-fach).
- b) Ausschnittvergrößerung von a). (160-fach).

4.2.7. Überlebensdauer: 2 Monate

Nach zwei Monaten werden sehr stark ausgeprägte subendotheliale "Polster" deutlich, die das Gefäßlumen einengen. Sie bestehen aus unreifen Mesenchymzellen, Fibroblasten und neu gebildeten elastischen Fasern. Adventitia und Media zeigen gegenüber dem Befund nach einem Monat keinen wesentlichen Unterschied. (Abb. 10).

4.2.8. Überlebensdauer: 4 Monate

Größe und Zahl der Zellen haben innerhalb der Media abgenommen. Die zwischen dem Endothel und der Media gelegenen "Polster" haben an Breite verloren und zeigen ebenfalls eine Verminderung der zelligen Anteile; sie engen jedoch die Gefäßlichtung noch deutlich ein.

4.2.9. Überlebensdauer: 6 Monate

Nach einem halben Jahr bietet die Regeneration der Gefäßwand ein nicht ganz einheitliches Bild. In den überwiegenden Gefäßregionen sind die in das Gefäßlumen ragenden Proliferationen dünner geworden und bilden nun einen schmalen Saum unter dem Endothel. Sie bestehen aus Fibroblasten und Fibrozyten sowie kollagenen und elastischen Fasern. In einzelnen Abschnitten dagegen sind die Proliferationen gegenüber dem Bild nach vier Monaten nur unwesentlich verändert.

4.2.10. Überlebensdauer: 1 Jahr

Die Adventitia ist narbig verändert. Die Media hat im Vergleich zum unbehandelten Gefäßabschnitt sichtbar an Breite verloren. Die Gesamtzahl der elastischen Faserschichten bleibt mit 8 bis 9 weitgehend konstant; die Faserzüge verlaufen gestreckt und kontinuierlich. Zwischen ihnen finden sich wenige Zellagen, die aus Fibroblasten und Fibrozyten bestehen. Die Intima ist meist nur geringgradig fibrös verdickt. Eine Endothelschicht kleidet die Arterie vollständig aus. (Abb.: 11).

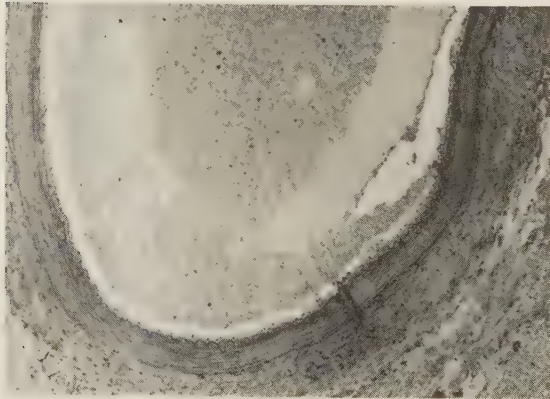


Abb.: 11

Zustand der Arterienwand ein Jahr nach dem Eingriff. Die Adventitia ist narbig verändert, die Media erscheint sehr schmal. Die Intima ist als deutlicher Saum zu erkennen. (HE, 100-fach).

4.2.11. Von der Norm abweichende Befunde

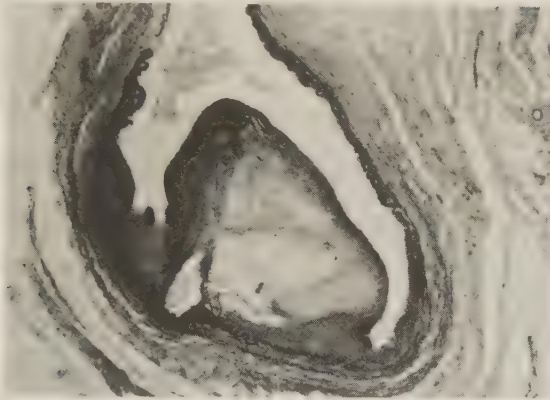


Abb.: 12

Parietalthrombose in der Arterie eines Versuchstieres nach einem halben Jahr. (WEIGERT'S Resorcin-Fuchsin, 40-fach).

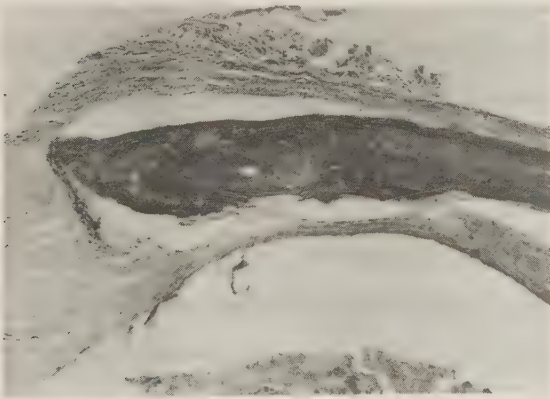


Abb.: 13

Abnorme Regeneration der Gefäßwand eines Tieres mit einer Überlebensdauer von einem Jahr, die mit Knochenbildung im Bereich der Media einhergeht. (van GIESON, 160-fach).

5. DISKUSSION

Die tierexperimentellen Untersuchungen hatten zum Ziel, den Ablauf der Kälteschädigung an der Arterienwand nach Anwendung extremer Kälte darzustellen.

Die makroskopischen Ergebnisse zeigen zunächst, daß eine drei Minuten dauernde vollständige Vereisung des Gefäßes bei -160°C zu keiner der gefürchteten Schäden in Form von Rupturen, Aneurysmen oder obliterierenden Thrombosen führt. Die Vergrößerung des äußeren Durchmessers bereits unmittelbar nach dem Auftauvorgang ist durch das entstandene Ödem und den Tonusverlust der Gefäßwand zu erklären. COE et al. (1965) und KONRAD et al. (1972) konnten bei ihren Untersuchungen mit Hilfe der Angiographie eine entsprechende leichte Dilatation des gefrorenen Gefäßabschnittes feststellen.

Während das histomorphologische Bild nach einer Stunde noch unter dem Zeichen eines ausgeprägten Ödems steht, wird zwischen einem und drei Tagen das Vollbild der Nekrose aller Wandschichten deutlich. Betroffen sind vor allem die zelligen Anteile; die Bindegewebsfasern sind zum größten Teil erhalten geblieben. Davon abweichende Beobachtungen, wie zum Beispiel umschriebene Gefäßwandnekrosen (LENZ und PREUSSLER, 1973) oder Nekrosen allein von Adventitia und Media (BAERTHOLD und STEINERT, 1971) sind durch die Anwendung anderer Methoden bedingt, die keine vollständige Durchfrierung des Gefäßes zulassen. Über

das Ausmaß der Vereisung und damit auch der Nekrose entscheiden neben der Art der Kälteapparatur die Größe der Sondenfläche, der gute Kontakt der Sonde mit dem Gewebe, die in der Gefäßwand erzielte Temperatur, die Gefrierdauer, das Gefäßkaliber, die Strömungsbedingungen des Blutes und schließlich auch die Wahl des Kühlmittels.

Bereits in der ödematösen Phase wird das Fehlen der Endothelzellen deutlich. HORWITZ et al. (1966) und BAERTHOLD und STEINERT (1971) fanden in ähnlichen Untersuchungen eine unveränderte Intima mit einem lückenlosen Endothel. Auch GAGE et al. (1967) und COOPER et al. (1971) berichten, daß das Endothel erhalten ist, obgleich die Zellen ödematös verbreitert erscheinen.

Unser Ergebnis jedoch bestätigt die Untersuchungen von LENZ (1971), der den sofortigen Verlust des Endothels unmittelbar nach dem Gefriervorgang mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops darstellen konnte. Diese Erscheinung läßt sich wie folgt erklären: Zwischen dem Gefäßlumen und dem subintimalen Gewebe bewegt sich ein ständiger Plasmastrom mit der Funktion der Nutrition und der Gewebsreinigung. Dieses Plasma wird bei der kryochirurgischen Behandlung mitgefroren, so daß das Endothelrohr vom darunterliegenden Zellverband abgelöst wird und damit innerhalb der gefrorenen Blutsäule liegt. Nach dem Auftauen werden die Endothelzellen mit dem wieder einsetzenden Blutstrom abtransportiert (DOERR, 1963; WALDER, 1970).

Während acht Tage nach dem kryochirurgischen Eingriff vereinzelte Endothelzellen beobachtet werden können, erscheint die Gefäßwand nach vierzehn Tagen wieder von einer kontinuierlichen Endothelschicht ausgekleidet. Gegenüber unseren lichtmikroskopischen Befunden konnten SCHWARTZ et al. (1975) jedoch in umfangreichen elektronenmikroskopischen Untersuchungen nachweisen, daß eine lückenlose Regeneration des Endothels erst vier bis acht Wochen nach der Schädigung erreicht ist. Verantwortlich für den Tonusverlust der Arterienwand ist außer dem Untergang der Muskelzellen die unterbrochene vasomotorische Innervation (WALDER, 1970). Die Atonie macht sich in einer Streckung der elastischen Fasern bemerkbar, die selbst ein Jahr nach dem Eingriff noch deutlich zu sehen ist. Die Anzahl der elastischen Faserschichten ist von anfänglich zwölf bis dreizehn auf sieben bis neun Schichten in der nekrotischen Phase zurückgegangen. Diese wenigen Fasern sind aber offenbar in der Lage, zusammen mit erhaltenen retikulären und kollagenen Faserstrukturen die Kontinuität des Gefäßrohres zu gewährleisten, nachdem alle zelligen Gewebsanteile zugrunde gegangen sind. Gleichzeitig verhindern sie die Ausbildung eines Aneurysmas. GAGE et al. (1967) konnten bei der Vereisung anderer Gewebearten nachweisen, daß die Morphologie des eingefrorenen Gewebes am besten in den Bezirken erhalten war, die den größten Anteil an bindegewebigen Faserstrukturen enthielten.

Die überlebenden Bindegewebsfasern stellen gleichzeitig ein "Gerüst" für die nach acht Tagen zu beobachtende reparative Regeneration dar. Verfolgt man die zunächst in der Adventitia beginnende Fibroblasten-tätigkeit über die darauffolgenden drei Wochen, so erkennt man eine zum Gefäßlumen gerichtete Proliferation der Fibroblasten. Vier Wochen nach dem Einfrieren sind diese Bindegewebszellen zum Teil bis in den subendothelialen Bereich vorgedrungen und bilden dort zusammen mit neu gebildeten Bindegewebsfasern immer breitere "Polster", die das Gefäßlumen erheblich einengen können.

Mit zwei Monaten hat diese Entwicklung ihr Maximum erreicht. Es beginnt nun eine Phase, in der die zelligen Anteile zugunsten der Faserstrukturen in den Hintergrund treten, was mit einer kontinuierlichen Verschmälerung der Wandschichten, einschließlich der subendothelialen "Polster", einhergeht.

Eine Regeneration der Muskelzellen, wie sie von COOPER et al. (1971) und KONRAD et al. (1972) beschrieben wird, konnten wir anhand unserer Untersuchungen in Übereinstimmung mit WALDER (1970) nicht bestätigen. Die glatte Muskulatur, die überhaupt nur kaum regeneriert (ZOLLINGER, 1971), ist vielmehr durch Bindegewebe ersetzt worden.

Bei einem Versuchstier mit einer Überlebensdauer von einem Jahr konnten wir eine abnorme Regeneration der Gefäßwand feststellen. In diesem Falle hatte sich im Bereich der Media Faserknochen und lamellärer Knochen gebildet. (Abb.: 13). Diese Beobachtung deckt sich mit zwei

ähnlichen Befunden, die LENZ und PREUSSLER (1973) beschreiben konnten.

Die Frage einer möglichen Thrombosierung des Gefäßes wird in der Literatur recht unterschiedlich beantwortet:

GAGE et al. (1967) konnten nach dem Einfrieren von verschiedenen Arterien bei Hunden keine Thrombose feststellen. Auch COE et al. (1965), die extracraniale Arterien und Venen bei Katzen vereisten, beobachteten selbst nach dreißig Minuten Gefrierdauer keine bleibenden Thrombosen. WALDER (1968, 1970) berichtet dagegen über die Thrombosierung corticaler Gefäße bei Katzen. Er weist ferner an einem Patientenkollektiv nach, daß eine Vereisung arterio-venöser Aneurysmen des Gehirns zu einer Ausschaltung oder wenigstens Verkleinerung des Shunts führt. Diese Tatsache wird zum Teil auf eine Thrombosierung des Gefäßes, zum Teil auf eine starke subendotheliale Proliferation zurückgeführt (WALDER, 1972). Wir konnten dagegen in unseren Versuchen nur einen Fall einer Parietalthrombose beobachten (Abb.: 12).

Das Ergebnis der vorliegenden tierexperimentellen Untersuchungen zeigt, daß die vollständige Vereisung einer Arterie vom Typ der A. carotis communis bei extrem tiefen Temperaturen zur Nekrose der Gefäßwand führt. Kontinuität und Funktionsfähigkeit des Gefäßes in der nekrotischen Phase werden hauptsächlich durch die zum größeren Teil überlebenden elastischen Bindegewebsfasern gewährleistet. Von der Adventitia ausgehend erfolgt schließlich die Regeneration der Arterienwand. Eine Ausnahme davon bildet die eigenständige Regeneration des Endothels.

Die klinische Anwendung der Kryochirurgie ist auf Grund unserer Ergebnisse auch zur Behandlung von Tumorgewebe in unmittelbarer Nähe von großen Gefäßen zu diskutieren. Eine Resektion des Tumorgewebes im Gesunden ist vielfach schwierig oder auch ganz unmöglich, ohne dabei den betroffenen Gefäßabschnitt mitzuopfern. Im Kopf- und Halsbereich und speziell für den Fall der A. carotis communis beinhaltet die Resektion des Gefäßes ferner das hohe Risiko einer cerebralen Schädigung. Bei klinisch gesunder A. carotis communis könnte sich die kryochirurgische Behandlungsmethode anbieten, da nach unseren Ergebnissen selbst eine totale Mitgefrierung des Gefäßes zu keinem der gefürchteten Schäden wie Rupturen, Aneurysmen oder vollständigen Thrombosen führt. Berücksichtigt man zusätzlich das mehrfach größere Kaliber der menschlichen A. carotis communis, so wird, wie die Untersuchungen von KLEIN et al. (1973) zeigen, deutlich, daß mit der hier beschriebenen Methode nur eine umschriebene Vereisung der Gefäßwand möglich ist. Die im Sinne einer "Gegenheizung" wirkende Wärmekonvektion des Blutes verhindert dabei eine Ausbreitung des Kälteherdes (STUCKE, 1966; GERLACH et al., 1967).

Für den Fall der bereits vom Tumor infiltrierten Arterienwand wird vor einem kryochirurgischen Eingriff die Frage relevant, in wie weit die elastischen Faserstrukturen schon durch das Tumorstadium zerstört sind. Die Vereisung eines solchen Gefäßes könnte die Gefahr einer Perforation in der nekrotischen Phase beinhalten. Die Problematik der klinischen Anwendung der extremen Kälte zur Behandlung von tumorummauerten großen Gefäßen muß in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 25 Kaninchen wurde die A. carotis communis drei Minuten lang bei einer Temperatur von -160°C vereist. Während des anschließenden Beobachtungszeitraumes zwischen einer Stunde und einem Jahr ergab sich in keinem der Fälle ein Anhalt für Rupturen, Aneurysmen oder vollständige Thrombosen. Das histomorphologische Bild zwischen einem und drei Tagen stand unter dem Zeichen der Nekrose aller Wandschichten. Nach acht Tagen dagegen waren reparative Vorgänge in vollem Gange. Es wird deutlich gemacht, daß die Kontinuität und Funktionstüchtigkeit des Gefäßrohres besonders in diesem Zeitraum durch die erhalten gebliebenen elastischen Faserstrukturen gewährleistet waren. Das histologische Bild der einzelnen Phasen im Ablauf der Kälteschädigung wird ausführlich beschrieben. Es werden ferner Rückschlüsse für die klinische Anwendung der Kryochirurgie an Gefäßen gezogen.

7. LITERATURVERZEICHNIS

ARNOTT (1851)

zit. nach WALDER (1967)

BAERTOLD, W., R. STEINERT:

Kryochirurgische Eingriffe an der Arterie. Eine tierexperimentelle Studie.

Arch. klin. exp. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk. Heilk. 200, 74-82 (1971)

BANGERTER, A.:

Zur Kataraktoperation nach fistulierender Operation.

Ophthalmologica (Basel) 161, 304-312 (1970)

BELLOWS, J.G.:

Indications and technique of cryoextractions of cataracts.

Arch. Ophthal. 73, 476-479 (1965)

BELLOWS, J.G.:

Introduction to cryosurgery.

Int. Surg. 47, 310-316 (1967)

BOYLE (1665)

zit. nach WALDER (1967)

CAHAN, W.G.:

Cryosurgery: The management of massive recurrent cancer.

In: Cryogenics in Surgery. Hrsg. von v. LEDEN und CAHAN.

Huber, Bern, Stuttgart, Vienna (1971) S. 182-234

CAHAN, W.G.:

The cryosurgical management of massive recurrent cancer.

In: Latest Developements in Cryosurgery. Hrsg. von HASCHEK.

Wiener Medizinische Akademie (1972) S. 295-300

CLAUSSEN, C.F.:

Untersuchungen zur Kryochirurgie. II. Mitteilung: Intraexperimentelle und biopsische Beobachtungen nach einfachen und mehrfachen Kryozyklen mit kapazitiv begrenzten Kryosonden.

Z. Laryng. Rhinol. 48, 722-728 (1969)

CLAUSSEN, C.F., F. SCHMIDT:

Untersuchungen zur Kryochirurgie. I. Mitteilung: Messung des Temperaturverhaltens zwischen Kälteapplikatoren und Gewebe.

Z. Laryng. Rhinol. 47, 923-928 (1968)

COE, J.E., S.D. ROCKHOFF, A.K. OMMAYA:

The effects of extreme cold on major extracranial arteries and veins.

Acta Neurochir. 12, 778-790 (1965)

COOPER, I.S., A.S. LEE:

Cryothalamectomy - hypothermic congelation: A technic advance in basal ganglia surgery.

J. Amer. Geriat. Soc. 9, 714-718 (1961)

COOPER, I.S.:

A cryogenic method for physiologic inhibition and production of lesion in the brain.

J. Neurosurg. 10, 853-858 (1962)

COOPER, I.S., S. STELLAR:

Cryogenic freezing of brain tumors for excision or destruction in situ.

J. Neurosurg. 20, 921-930 (1963)

COOPER, I.S.:

Cryogenic surgery. A new method of destruction or extirpation of benign or malignant tissues.

New Engl. J. Med. 268, 743-753 (1963)

COOPER, I.S.:

Cryogenic surgery for cancer.

Fed. Proc. 24, 237-240 (1965)

COOPER, I.S., K. SAMRA, K. WISNIEWSKA:

Effects of freezing on major arteries.

Stroke 2, 471-482 (1971)

DOERR, W.:

Perfusionstherapie der Arteriosklerose.

Thieme, Stuttgart (1963)

EMMINGS, F.G., M.E. NEIDERS, G.W. GREENE, S.W. KOEPF,

A.A. GAGE:

Freezing the mandible without excision.

J. oral Surg. 24, 145-155 (1966)

EMMINGS, F.G., S.W. KOEPF and A.A. GAGE:

Cryotherapy for benign lesions of the oral cavity.

J. oral Surg. 25, 320-326 (1967)

FARRANT, J.:

Cryobiology: The basis for cryosurgery.

In: Cryogenics in Surgery. Hrgg.von v.LEDEN und W.G. CAHAN.

Huber, Bern, Stuttgart, Vienna (1971), S. 15-41

FARRANT, J.:

Cryosurgery: 1. Cryobiological Principles.

Cryogenics 12, 3-6 (1972)

GAGE, A.A., S. KOEPF, D. WEHRLE and F. EMMINGS:

Cryotherapy for cancer of the lip and oral cavity.

Cancer (Philad.) 18, 1646-1651 (1965)

- GAGE, A.A., G.W. GREENE, M.E. NEIDERS, F.G. EMMINGS:
Freezing bone without excision. An experimental study of bonecell
destruction and manner of regrowth in dogs.
J. Amer. med. Ass. 196, 770-774 (1966)
- GAGE, A.A., G. FAZEKAS, E.E. RILEY:
Freezing injury to large blood vessels in dogs.
Surgery 61, 748-754 (1967)
- GAGE, A.A., M.J. GONDER, W.A. SOANES and F.G. EMMINGS:
Cancer cryotherapy.
Milit. Med. 132, 550-556 (1967)
- GAGE, A.A.:
Cryotherapy for oral cancer.
J. Amer. med. Ass. 204, 565-569 (1968)
- GAGE, A.A.:
Cryosurgery for oral and pharyngeal carcinoma.
Amer. J. Surg. 118, 669-672 (1969)
- GAGE, A.A.:
Cryosurgery as primary treatment for oral cancer - longterm results.
In: Latest Developements in Cryosurgery. Hrgg. von HASCHEK.
Wiener Medizinische Akademie (1972), S. 283-293
- GERLACH, J.:
Kälteanwendung in der operativen Medizin.
Dtsch. Ärztebl. 47, 2717-2719 (1966)
- GERLACH, J., D. MEINHARDT, G. PESCHEL, H. SPULER, K. STUCKE:
Grundlagen der operativen Anwendung tiefer Temperaturen in der
klinischen Medizin. I. Mitteilung: Abkühlung und Eisbildung durch
Kältesonden in wäßrigen Lösungen.
Z. ges. exp. Med. 140, 230-247 (1966)

GERLACH, J., K. HANSEN, D. SEGMILLER, H. SPULER:

Grundlagen der operativen Anwendung tiefer Temperaturen in der klinischen Medizin. III. Mitteilung: Der Einfluß von Durchblutungsveränderungen auf den Kälteeffekt im Tierexperiment.

Z. ges. exp. Med. 144, 46-53 (1967)

GERLACH, J., G. PESCHEL, G. PFEFFER:

Untersuchungen zur Gewebehaftung in der Kryochirurgie.

Z. ges. exp. Med. 151, 175-185 (1969)

GOLDSTEIN, J.C.:

Cryotherapy in head and neck cancer.

Laryngoscope (St. Louis) 80, 1046-1052 (1970)

HAUSAMEN, J.E.:

Klinische und experimentelle Untersuchungen zur Kryochirurgie im Kiefer- und Gesichtsbereich.

Hab. Schr., Mainz (1972)

HAUSAMEN, J.E.:

Kryochirurgische Behandlung von Leukoplakien der Mundschleimhaut.

Dtsch. zahnaerztl. Z. 28, 1032-1036 (1973)

HAUSAMEN, J.E., J. REUTHER:

Ergebnisse vergleichender tierexperimenteller Untersuchungen über die kontrollierte kryochirurgische Behandlung der Schleimhaut.

Zahnärztl. Welt 6, 262-270 (1974)

HORWITZ, N.H., H. GOKALP, J. RANDALL:

In situ freezing of the common carotid artery and sagittal sinus of the dog.

Cryobiology 2, 4, 223-228 (1966)

KLEIN, H., P. BRAESS, H. GANZ:

Untersuchungen zur Kryotherapie an den großen Halsgefäßen beim Menschen.

Arch. klin. exp. Ohr.-, Nas.- und Kehlk.-Heilk.

205, 307-311 (1973)

KOFLER, K.:

Morphologische Befunde zur Kryochirurgie der adenomatösen sogenannten Prostatahypertrophie und des Karzinoms der menschlichen Prostata.

Urol. int. 24, 439-459 (1969)

KONRAD, G., K. HOCHBERG, W.G. FORSSMANN:

Cryosurgery of the major abdominal vessels of rabbits.
An electron microscopic study.

In: Latest Developements in Cryosurgery. Hrgg.von HASCHEK.
Wiener Medizinische Akademie, (1972) S. 95-100

LEDEN v., H. und R.W. RAND:

Cryosurgery of the mouth, nose and throat.

Trans. Amer. Acad. Ophthal. Otolaryng. 70, 890-899 (1966)

LEDEN v., H. und R.W. RAND:

Cryosurgery of the head and neck.

Arch. Otolaryng. 85, 93-98 (1967)

LEDEN v., H.:

Kryochirurgie bei Kopf- und Halstumoren.

Arch. klin. exp. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk.

205, 84-87 (1973)

LENZ, H.:

Sofortfolgen des kryochirurgischen Traumas an der Gefäßwand.

Z. Laryng. Rhinol. 11, 783-793 (1971)

LENZ, H., H. PREUSSLER:

Regenerations- und Reparationszustände der Karotis nach Kryochirurgie.

Z. Laryng. Rhinol. 5, 381-393 (1973)

LOVELOCK, J.E.:

The haemolysis of human red blood-cells by freezing and thawing.

Biochem.biophys. Acta (Amst.) 10, 414-426 (1953)

LOVELOCK, J.E.:

Biophysical aspects of the freezing and thawing of living cells.

Proc. roy. Soc. Med. 47, 60-62 (1954)

LOVELOCK, J.E.:

The denaturation of lipid-protein complexes as a cause of damage by freezing.

Proc. roy. Soc. Med. 147, 427-433 (1957)

MARCHETTA, F.C., K. SAKO, A.G. POOLE, R.A. HAYES:

Cryosurgery in the controlled destruction of oral mucous membranes:

An experimental Study.

J. Cryosurg. 1, 273-279 (1968)

MAZUR, P.:

Manifestations of injury in yeast cells exposed to subzero temperatures.

I. Morphological changes in freeze-substituted and in "frozen thawed" cells.

J. Bact. 82, 662-672 (1961)

MAZUR, P.:

Causes of injury in frozen and thawed cells.

Fed. Proc. 24, 175-182 (1965)

MAZUR, P.:

Theoretical and experimental effects of cooling and warming velocity on the survival of frozen and thawed cells.

Cryobiology 2, 181-192 (1966)

MAZUR, P., J.J. SCHMIDT:

Interaction of cooling velocity, temperature and warming velocity on the survival of frozen and thawed yeast.

Cryobiology 5, 1-17 (1968)

MILLER, D.:

Three years experience with cryosurgery in head and neck tumors.
Ann. Otol. (St. Louis) 78, 786-791 (1969)

NEI, T.:

Mechanism of haemolysis of erythrocytes by freezing at near-zero temperatures.

Cryobiology 4, 303-308 (1968)

OPENCHOWSKI, Ph.:

Sur l' action localisée du froid, appliqué à la surface de la région corticale du cerveau.

C.R. Soc. Biol. (Paris) 35, 38-43 (1883)

SCHROTT, K.M., A. SIGEL, Th. SCHMIDT:

Das Verhältnis zwischen Sondengröße, Gefriereschwindigkeit und Zelltod in der Kryochirurgie.

Urologe 8, 164-167 (1969)

SCHWARTZ, S.M., M.B. STEMERMAN, E.P. BENDITT:

The aortic intima. II. Repair of the aortic lining after mechanical denudation.

Amer. J. Pathol. 81, 15-42 (1975)

SIGEL, A., K.M. SCHROTT:

Die Apparatur der Kryochirurgie.

Urologe 6, 367-371 (1967)

SIGEL, A., K.M. SCHROTT:

Kältebehandlung des Blasenkrebses.

Urologe 6, 190-196 (1967)

SPALLANZI (1787)

zit. nach WALDER (1967)

STRAUB, W.:

Kälteanwendung in der Ophthalmologie.

Dtsch. Ärztebl. 68, 18-19 (1971)

STUCKE, K.:

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Kryochirurgie der Leber.
Langenbecks Arch. klin. Chir. 316, 914-919 (1966)

WALDER, H.A.D.:

Toepassingsmethodiek in de neurochirurgie.
Scheltema & van Holkema, Amsterdam, (1967)

WALDER, H.A.D.:

Applications of cryosurgery. An experimental and clinical study
of its effects on the blood vessels.
J. Cryosurg. 1, 306-313 (1968)

WALDER, H.A.D., H.H.J. JASPER, E. MEIJER:

Application of cryotherapy in cerebrovascular anomalies.
Psychiat. Neurol. Neurochir. (Amst.) 73, 471-486 (1970)

WALDER, H.A.D.:

Cryosurgery as a technical method, its indications and results.
Acta.chir. belg. 71, 203-219 (1972)

WALDER, H.A.D.:

Die Behandlung arterio-venöser Anomalien im Gehirn mit Hilfe
der Kryotherapie.
Therapiewoche 18, 1542-1544 (1972)

WOOD, T.H., A.M. ROSENBERG:

Freezing in yeast cells.
Biochem. biophys. Acta (Amst.) 25, 78-87 (1957)

WULLSTEIN, H., H. GERLACH, H. SPULER, S. ZEHR:

Hals- Nasen- Ohren-ärztliche Erfahrungen mit der operativen
Kälteanwendung.
Dtsch. med. Wschr. 91, 1016-1019 (1966)

ZOLLINGER, H.U.:

Pathologische Anatomie. I. Allgemeine Pathologie.
Thieme, Stuttgart, (1971)

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn

Prof. Dr. med. Dr. med. dent. J.-E. Hausamen

für die Überlassung des Themas und seinen wertvollen

Rat bei der Ausführung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Dr. H.-M. Schneider vom Pathologischen Institut

(Direktor: Prof. Dr. W. Thoenes) danke ich für seine

Beratung bei der Auswertung der histologischen Präparate.

LEBENS LAUF

Am 4.2.1949 wurde ich als Sohn des Schuhmachermeisters Bernd Berger und seiner Ehefrau Rosel, geborene Sitter in Essen geboren.

Von April 1955 bis 1959 besuchte ich die katholische Volksschule am Voßbusch in Essen-Bredeney. 1959 wechselte ich zur Goetheschule, neusprachliches Gymnasium in Essen-Bredeney über. An dieser Schule legte ich am 4.7.1967 die Reifeprüfung ab.

Ab Oktober 1967 leistete ich für zwei Jahre den Bundeswehrdienst ab und schied als Reserveoffizier aus.

Im Wintersemester 1969/70 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz.

Am 25.3.1971 bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung, am 12.4.1972 die zahnärztliche Vorprüfung. Nach abgelegtem Staatsexamen erhielt ich am 5.11.1974 die Bestallung als Zahnarzt.

Am 23.5.1975 heiratete ich Christel Helbig.

Seit dem 1.12.1974 bin ich als Assistent in der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten - zahnärztlich-chirurgische Abteilung - der Johannes Gutenberg-Universität Mainz tätig.

